

TOXOPLASMOSE: CORRELAÇÃO ENTRE TÍTULOS DE ANTICORPOS FLUORESCENTES NO SORO E NO LÍQUIDO CÉFALO-RAQUIDIANO

SEBASTIÃO UNES *

RESUMO

O Autor realizou 326 reações de imunofluorescência, sendo 163 no soro e 163 no líquido céfalo-raquidiano, de material colhido, concomitantemente, em pacientes de clínica neurológica.

A análise dos resultados mostrou que 49,07% de soros deram reações positivas para a diluição de 1/1.024 ou acima; 26,99% para as diluições de 1/16 a 1/256 e 23,92% foram negativas. No líquor, 44,78% apresentaram reações negativas enquanto que 55,21% foram positivas para as diluições empregadas da forma seguinte: líquor puro, diluído a 1/4, 1/16, 1/64 e 1/256.

Conclui pela inclusão da reação de imunofluorescência para toxoplasmose na rotina do líquor e pela não diluição do mesmo ou, quando solicitada, nas proporções acima. Não diluído, o resultado poderá ser expresso como Positivo de -+ até -+ -+ -+ -+, dependendo da intensidade de fluorescência. Aproximadamente, quando o líquor for Positivo -, corresponderá a um título de 1/256 a 1/1.024 no sangue — Positivo -+ -+ de 1/1.024 a 1/16.000 — Positivo -+ -+ ou -+ -+ -+ acima de 1/4.096.

INTRODUÇÃO

Com a aplicação de técnicas de fluorescência nos laboratórios de

análise, podem ser realizadas pesquisas antes reservadas somente aos centros especializados. Neste sentido, estão incluídas as técnicas de diagnóstico de toxoplasmose que, para um resultado satisfatório, necessitavam fossem executadas pela Reação de Sabin & Feldmann⁽²¹⁾ considerada como padrão na sorologia desta parasitose⁽⁴⁾.

A reação indireta de imunofluorescência dá resultados equivalentes aos da SRF, sendo que Camargo verificou a equivalência em 140 soros com coincidência dos títulos em 91%⁽²⁾.

Já, em 1943, Nery Guimarães⁽⁹⁾ relata a ocorrência de toxoplasmose humana em adultos e recém-nascidos, com meningoencefalomielite toxoplasmica.

Lamartine de Assis & cols.⁽¹¹⁾ realizaram um estudo clínico-laboratorial terapêutico de 8 casos de toxoplasmose adquirida. Foram feitas reações de Sabin & Feldmann no soro sanguíneo. Esta mesma reação foi realizada no LCR de 2 pacientes com resultados negativos. Também Fiorillo⁽⁸⁾ relata estudo em 30 pa-

* Professor Adjunto do Deptº. de Controle Bioquímico da Faculdade de Farmácia da UFGO.

cientes com toxoplasmose comprovada, tendo executado a RSF no soro excluído do LCR.

Diversos autores relatam casos clínicos de toxoplasmose com acometimentos do SNC e diagnóstico laboratorial e reação no soro sanguíneo.

Em trabalho realizado em Goiás sobre toxoplasmose⁽⁵⁾, verificou-se um índice geral médio de positividade de 56,7% e 48,6% considerando-se entre os primeiros, 1.411 clientes de várias clínicas e os outros, 366 pessoas aparentemente saudáveis. Ainda, em outro trabalho,⁽⁷⁾ os autores realizaram estudos entre a RSF e a toxoplasmina, verificando-se alto índice de positividade. Em 1969⁽⁶⁾ a RSF e a Reação de Imunofluorescência para Toxoplasmose foram executadas em 88 soros de crianças com resultados concordes e positividade de 53,2%.

No presente trabalho, realizamos a Reação Indireta de Imunofluorescência para Toxoplasmose tanto no soro sanguíneo como no liquor, colhidos do mesmo paciente.

MATERIAL E MÉTODO

O material de estudo é representado por 163 amostras de soro sanguíneo e de 163 líquidos céfalo-raquidianos colhidos no mesmo dia, de cada paciente e encaminhados ao laboratório de análises do autor para exames de rotina de liquor.

Reação de Imunofluorescência:

Antígeno: empregamos nas reações, lâminas de microscopia

com 10 pequenas áreas delimitadas por traços de esmalte de unhas no interior das quais é colocada a suspensão de toxoplasma (3.10).

Conjugado antiglobulina humana:

Empregamos o preparado pelo Instituto Pasteur-Paris, diluído a 1/200 e titulado com soro de título de 1/1.000 pela Reação de Sabin & Feldmann e que nos foi fornecido pelo Instituto de Patologia Tropical da UFGO⁽¹⁰⁾.

Técnica de Reação: empregamos a indireta, modificando-se o tempo de incubação a 37°C para 30 minutos em câmara úmida e seguindo-se toda a técnica já descrita (2.10).

Após a reação, as lâminas foram montadas usando glicerina tamponada alcalina e lamínula e observadas em microscopia de fluorescência logo a seguir. (microscópio binocular, mod. HSL 2 - Olympus).

Na reação com o soro, usamos as diluições 1/16, 1/64, 1/256, 1/1.024 e 1/4096 e, quando necessário, 1/8.000, 1/16.000, 1/32.000, 1/64.000 e 1/128.000.

Com os LCR usamos = liquor puro-diluído 1/4, 1/16 e 1/256.

Ausência de fluorescência ou fluorescência polar nos toxoplasmas foram reações negativas; positivas, as que apresentaram fluorescência em toda a membrana externa indo de positiva + até ++++.

A mais alta diluição com + (uma cruz) da fluorescência foi considerada como título.

RESULTADOS

Os resultados obtidos no presente trabalho estão distribuídos na figura 1, onde verificamos a correlação entre os soros e os LCRs.

Nota-se que, sempre que o soro foi negativo, também o foi o LCR num total de 39 (23.92%) de cada.

Ainda com 34 (20,84%) LCRs negativos, obtivemos soros com títulos de 1/16 a 1/256.

Títulos de 1/256 em 10 (6,13) soros tomaram o LCR puro positivo e de 1/1.024 sempre imunofluorescência positiva no liquor.

A diluição do LCR a 1/4 forneceu uma positividade no soro de 1/1.024 a 1/16.000; de 1/16-1/1.024 a 1/64.000 e 1/64-1/8.000 a 1/64.000.

Na tab. I e fig. 2, podemos observar os valores globais e os percentuais. Podemos verificar a alta incidência de resultados positivos, sendo que os soros de títulos de 1/16 a 1/256 perfazem 44 (26,99%) e de 1/1.024 e acima 80 (49,07%). O total de positivos é 76,06%. A positividade no LCR dá um total de 90 (55,21%).

Conforme a menor ou maior intensidade de fluorescência nos toxoplasmas que receberam o LCR sem diluição, consideramos reações Positivas + até ++++ e as correlações nos soros assim distribuídos: positiva + título no soro de 1/256 a 1/1.024; Positiva ++ de 1/1.1.024 a 1/4.096; Positiva +++ de e acima de 1/1.096.

COMENTÁRIOS E CONCLUSÕES

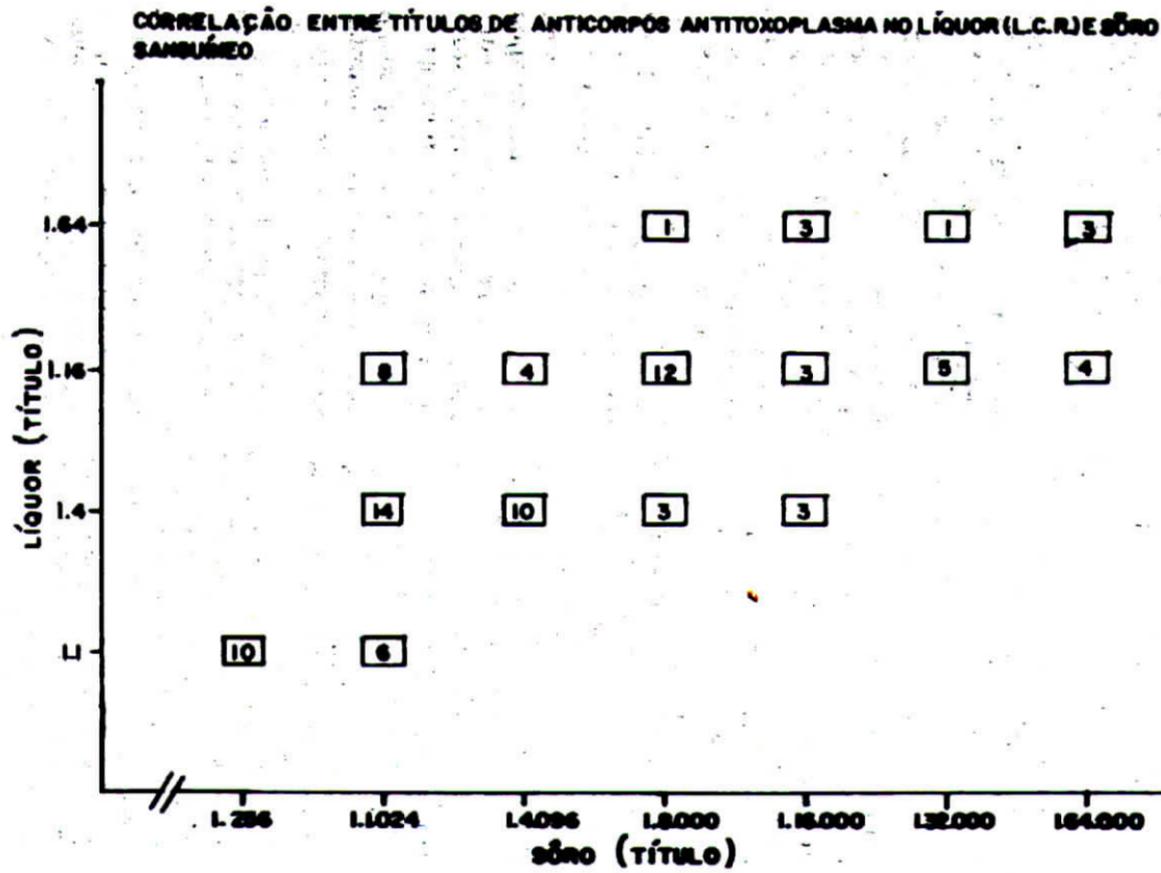
Em um total de 90 LCRs positivos, encontramos como títulos mais elevados a diluição de 1/64

Em todos os casos em que o soro teve título igual ou acima de 1/1.024, a reação no liquor foi positiva bem como em 6.13% com título correspondente a 1/256. Para a análise rotineira do liquor, torna-se desnecessária a sua diluição e o resultado por meio de cruzes (-|- a +-+-) poderá fornecer uma prévia interpretação sobre o título no soro sanguíneo.

Amato Neto⁽¹⁾ relata que, para alguns autores, a diluição de 1/256 no soro, pela R.S.F., separaria os casos de toxoplasmose-infecção daqueles de toxoplasmose-doença. O mesmo autor considera o título de 1/1.024 baseado em correlações clínico-laboratoriais. Baseado nestas interpretações, a tabela 1 nos mostra um índice de positividade no LCR de 55,21% e no soro sanguíneo de 49,07% para o título 1/1.1.024 e 26,99% para o título 1/256.

Ainda do mesmo autor: "Aspecto importante a destacar é que a forma mais comum da toxoplasmose é a inaparente, podendo ser considerados bem menos frequentes os acometimentos clinicamente expressivos".

Portanto, a inclusão da reação de imunofluorescência para toxoplasmose no exame de rotina do LCR justifica-se plenamente, considerando-se o índice de positividade encontrado.



RESULTADOS DAS REAÇÕES DE I.F. PARA TOXOPLASMA REALIZADOS EM 163 L.C.R. E SÔRO SANGÜÍNEO PARALELAMENTE DE PACIENTES DE CLÍNICA NEUROLÓGICA · GOIÂNIA · 60 1972

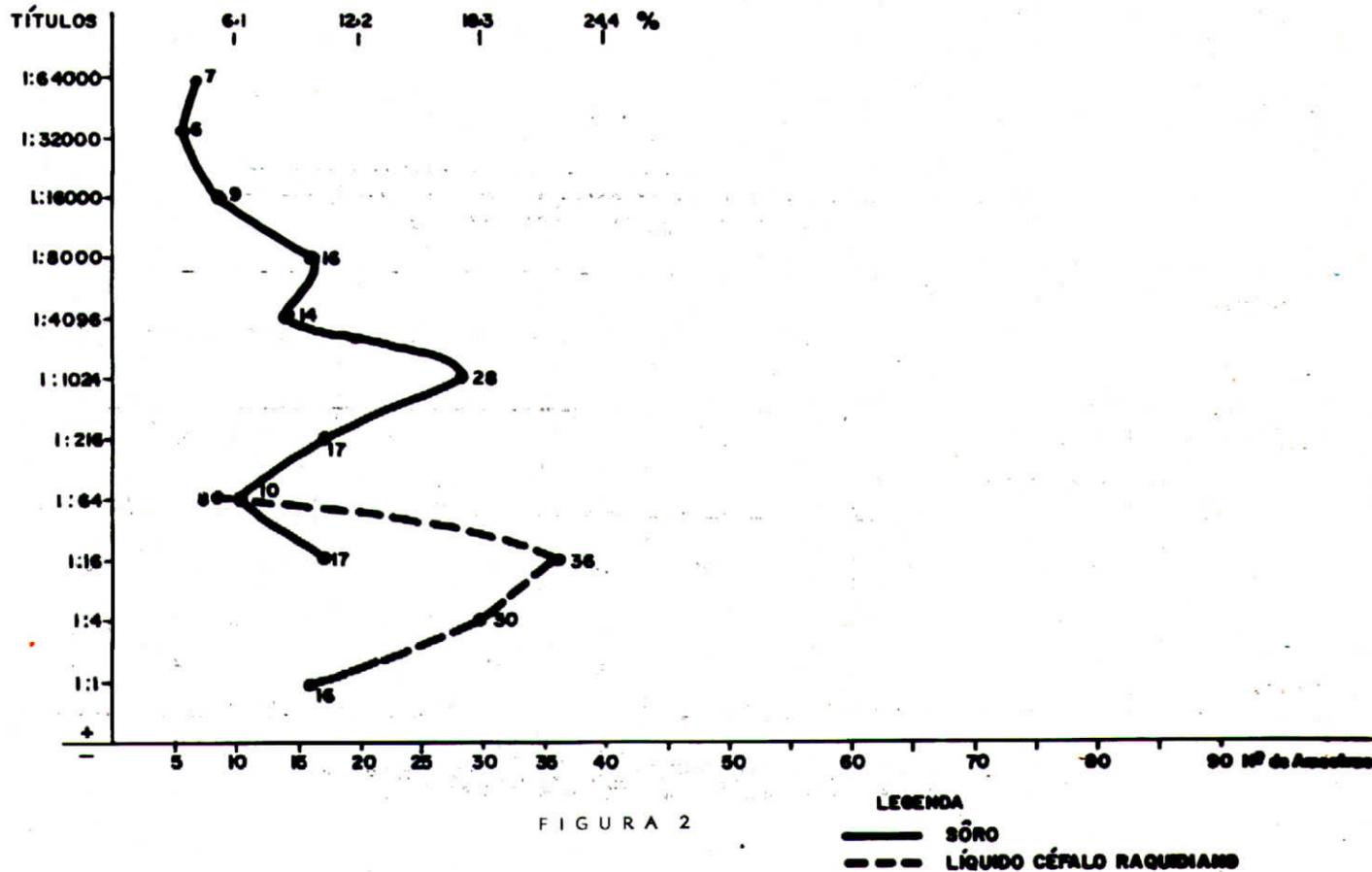


FIGURA 2

TABELA I

RESULTADOS DAS REAÇÕES DE IMUNOFLUORESCÊNCIA PARA TOXOPLASMOSE REALIZADAS EM PARELHA DE SOROS E L.C.R. DE PACIENTES DE CLÍNICA NEUROLÓGICA — GOIÂNIA - Go.

Resultado Material	1/1	1/4	1/16	1/64	1/256	1/1024	1/4096	1/8000	1/16000	1/32000	1/64000	Negativo	Total
	L.C.R.	16 9,8%	30 18,4%	36 22,0%	8 4,9%	0	0	0	0	0	0	0	73
Soro Sanguíneo	—	—	17	10	17	28	14	16	9	6	7	39	163
	—	—	10,4	6,13	10,4	17,1	8,5	9,8	5,5	3,6	4,2	—	—

Soros positivos com títulos até 1/256 — 44 (26,99%)
 Soros positivos com Títulos igual ou superior a 1/1024 — 80 (49,07%)
 L.C.R. positivo com título até 1/256 — 90 (55,21%).

SUMMARY

INDIRECT FLUORESCENT ANTIBODY STUDIES IN SERUM AND CEREBROSPINAL FLUID IN TOXOPLASMOSIS:

326 immunofluorescence tests for toxoplasmosis in serum and cerebrospinal fluid were performed. Blood and cerebrospinal fluid were drawn at the same time, from patients at the Neurological Clinic of Goiânia-Goiás.

49,07% of the serum tests gave positive reactions for dilutions of 1/1.024 or higher; 26,99% for dilutions of 1/16 to 1/256; 23,92% were negative. In cerebrospinal fluid 44,78% revealed negative results whereas 52,21% were positive in different concentrations: undiluted and in dilutions of 1/4, 1/16, 1/64 and 1/256.

It is concluded that the indirect immunofluorescence test in indiluted cerebrospinal fluid should be included as a routine method for the investigation of toxoplasmosis.

Results should be expressed as: Positive -+ to -|-|-|-|- depending on the intensity of fluorescence.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMATO NETO, V. — Toxoplasmose. *Rev. Goiana Med.* 17:181-109, 1971.
2. CAMARGO, M.E. — Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo.* 6:117-118, 1964.
3. CAMARGO, M.E. — Preparation of microscopical slides to simplify immunofluorescence serological titrations. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo.* 7:39-40, 1965.
4. CAMARGO, M.E. & VERONESI, R. — Toxoplasmose adquirida — Aspectos clínicos e laboratoriais. *J. Bras. Med.* 10:519-527, 1966.
5. FERNANDES, W.J. & BARBOSA, W. — Toxoplasmose em Goiás — Comparação dos resultados da Reação de Sabin-Feldmann em investigação clínica e epidemiológica. *Rev. Pat. Trop.* 1:29-38, 1972.
6. FERNANDES, W.J.; BARBOSA, W.; OLIVEIRA, R.L.; MACHADO, A.J.; GUERRA, H.A.; EVANGELISTA, S. & CEVA, G.H.D. — Toxoplasmose em crianças excepcionais em Goiás (1969) — *Rev. Pat. Trop.* 1:39-44, 1972.
7. FERNANDES, W.J.; BARBOSA, W.; CEVA, G.H.D. & OLIVEIRA, R.L. — Estudo preliminar sobre epidemiologia da toxoplasmose em Goiás. Investigação pela Reação de Sabin-Feldmann e toxoplasmina em dois bairros de Goiânia. *Rev. Pat. Trop.* 1:267-276, 1972.
8. FIORILLO, A.M.; FIGUEIREDO, J. A. & RIBEIRO, R.M. — Aspectos neurológicos e eletroencefalográficos da toxoplasmose. *Arq. Neuro-Psiquiat.* (São Paulo) 22: 1, 1964.
9. GUIMARÃES, F.N. — Toxoplasmose humana em adultos e em recém-nascidos. *Mem. Inst. Osw. Cruz.* 38:257-320, 1943.
10. HYAKUTATE, S. — Curso sobre imunofluorescências — Instituto de Patologia Tropical da UFGO — abril, 1972.
11. LAMARTINE DE ASSIS, J.; SCAFF, M. & BACHESCHI, L.A. — Aspectos neurológicos da toxoplasmose adquirida. *Arq. Neuro-Psiquiat.* (São Paulo). 27: 271-283, 1969.
12. SARRIN, A.B. & FELDMANN, H.A. — Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoon parasite (toxoplasma). *Science*, 109: 660-663, 1948.